

Соснин Д. Ю.¹, Фалков Б. Ф.², Ненашева О. Ю.

Оценка правильности распознавания клеток системой автоматизированного анализа крови Vision Hema

1 – ГБОУ ВПО «Пермская медицинская академия им. ак. Е. А. Вагнера» МЗ РФ, г. Пермь; 2 – ООО «West Medica», г. Москва

Sosnin D. Yu., Falkov B. F., Nenasheva O. Yu.

Estimation of Correctness for Cells Recognition by Vision Hema Automated Blood Analysis System

Резюме

Выполнен анализ мазков крови (n=21) с помощью автоматизированной системы анализа крови Vision Hema. Для оценки качества распознавания клеток крови использованы операционные критерии: диагностическая чувствительность (ДЧ), диагностическая специфичность (ДС) и диагностическая эффективность (ДЭ), рассчитывавшиеся системой автоматически. Время, затраченное на анализ 1 мазка крови, составило 4,43±1,33 минуты, что сопоставимо с затратами времени при ручном подсчете лейкоцитарной формулы. Система в автоматическом режиме сканировала мазок крови, собирала и преклассифицировала изображения клеток, формируя галереи изображений. Врачебная валидация и формирование отчета по результатам анализа, проводилась одновременно, со сканированием новых мазков крови и заняла 1,38±0,52 минуты на 1 стеклопрепарат. Установлена высокая эффективность распознавания клеток крови здорового человека системой Vision Hema. Наиболее правильно идентифицировались сегментоядерные нейтрофилы (ДЧ=89,9±5,3%; ДС=92,7±4,6%; ДЭ=91,0±5,5%) и лимфоциты (ДЧ=97,3±5,3% ДС=90,3±4,4% ДЭ=90,3±4,4%). Наибольшее количество ошибок допускалось при определении палочкоядерных нейтрофилов (ДЧ=46,5±8,2%). Использование систем автоматизированного анализа объективизировало результаты оценки морфологии клеток крови.

Ключевые слова: компьютерный анализ клеток крови, автоматизированная микроскопия, гематология, Vision Hema

Summary

Blood smear analysis performed (n=21) using Vision Hema automated blood smear analysis system. To estimate the quality of blood cells recognition operational criteria were used: Diagnostic Sensitivity (DSe), Diagnostic Specificity (DSp) and Diagnostic Effectiveness (DE), that are calculated automatically by the system. Time elapsed for the analysis of 1 blood smear was 4.43±1.33 minutes, that is comparable with the timing consumption for manual differential leucocytes count. System was scanning blood smear in automatic mode, collecting and pre-classifying the cell images, forming the galleries of images. Validation by the doctor and forming the report according to analysis results was performed simultaneously, during scanning the new blood smears, and has taken 1.38±0.52 minutes for 1 microscopy slide. High effectiveness of cells recognition for the blood or the healthy persons was revealed for Vision Hema system. Most often correct identification was made for segmented neutrophils (DSe=89.9±5.3%; DSp=92.7±4.6%; DE=91.0±5.5%) and lymphocytes (DSe=97.3±5.3% DSp=90.3±4.4% DE=90.3±4.4%). The largest number of errors was made for determination of band neutrophils (DSe=46.5±8.2%). Using automated analysis systems has made the results of morphology estimation for the blood cells more objective.

Keywords: computer analysis of blood cells, automatic microscopy, hematology, Vision Hema

Введение

Современной тенденцией морфологического исследования крови является использование автоматических систем сбора и анализа изображений клеток [1, 2, 3, 4]. Их преимущества обусловлены высокой диагностической значимостью микроскопических исследований и имеющимися недостатками ручной микроскопии, в част-

ности высокая трудоемкость и субъективизм, которые не позволяют в массовых масштабах обеспечить необходимую точность и полноту анализа проведения анализа [5].

Имеющиеся на рынке устройства способны в автоматическом режиме выполнять сбор и идентификацию необходимого количества изображений клеток. Сотрудник лаборатории осуществляет визуальный контроль резуль-

Таблица 1. Принцип расчета операционных характеристик определения клеток периферической крови в Vision Nema

После сканирования	После валидации	Операционные критерии
Общее количество «лейкоцитов» после сканирования (n = 100)	Общее количество после валидации (n = 100)	
Первично определённая популяция лимфоцитов (n=39) до валидации = 39 (A+B) Где А - клетки, правильно определенные как лимфоциты = 35 (они не перемещаются в другие группы клеток) В - клетки, которые не являются лимфоцитами = 4(они перемещаются в другие группы клеток)	После валидации лимфоциты это A+C=35 + 3 = 38	Диагностическая чувствительность (ДЧ) = $A / (A+C)$ ДЧ = 35/(35 + 3) = 92,1%
Оставшиеся клетки, которые система распознала как какие-то другие (НЕ ЛИМФОЦИТЫ) клетки крови (n = 61) до валидации = C +D=61 Где С - лимфоциты, не распознанные как лимфоциты и попавшие в другие группы клеток = 3 (они перемещаются из других галерей в галерею изображений лимфоцитов) Д - все другие клетки = 58, которые не являются лимфоцитами, и поэтому правильно не попавшие в лимфоциты (они не перемещаются в галерею лимфоцитов)	После валидации НЕ лимфоциты это В + Д = 4 + 58 = 62	Диагностическая специфичность (ДС) = $D / (B + D)$ ДС = 58/(4 + 58) = 93,5% Диагностическая эффективность (ДЭ) = $(A + D) / (A+B+C+D)$ ДЭ = (35 + 58) / 100=93,0%

татов автоматической сортировки клеток по типам, и при необходимости проводит коррекцию распределения изображений [1, 4, 6]. Однако, в литературе приводятся различные цифры, характеризующие эффективность и правильность работы таких приборов [5, 6, 7]. Это связано с отсутствием единого подхода к решению проблемы, как со стороны разработчиков таких систем, так и пользователей – сотрудников лабораторий.

Современная медицина предъявляет высокие требования к доказательству эффективности новых методов диагностики, лечения. Для этого применяются операционные критерии, характеризующие эффективность какого – либо диагностического метода [8].

Цель исследования: на основе расчета операционных критериев провести оценку качества подсчета лейкоцитарной формулы здоровых людей системой автоматизированного анализа крови Vision Nema.

Материалы и методы

Для оценки качества идентификации клеток крови системой Vision Nema использовали расчет следующих операционных критериев: диагностической чувствительности (ДЧ) и диагностической специфичности (ДС), характеризующих предсказательную ценность положительного и отрицательного результатов. А также определение диагностической эффективности (ДЭ), которая представляет собой отношение правдоподобия положительного и отрицательного результатов [9].

За основу для их расчета использовали традиционный алгоритм расчета ДЧ, ДС и ДЭ приведенный в литературы [8], который модифицировали для подсчета лейкоцитарной формулы в мазке крови.

ДЧ распознавания автоматизированной системой той или иной популяции клеток оценивали следующим образом. После утверждения результатов анализа сотруд-

ником лаборатории рассчитывали процент правильно идентифицированных клеток, например, лимфоцитов, к общему количеству всех лимфоцитов в проанализированном мазке крови. ДС - рассчитывали как отношение количества всех клеток, которые система распознала как НЕ лимфоциты, ко всем клеткам, которые не являются лимфоцитами. Для оперативного расчета указанных операционных показателей была разработана компьютерная программа, интегрированная в Vision Nema. Она автоматически регистрирует количество правильно идентифицированных клеток, которые не перемещаются между галереями изображений, а также учитывает и число неправильно идентифицированных клеток, которые перемещаются в другие галереи клеток при валидации результатов анализа. Эти данные используются для расчета операционных критериев. В таблице приведен пример расчета ДЧ, ДС и ДЭ для лимфоцитов (табл. 1).

Важным показателем правильности работы системы является процент ручной коррекции распределения изображений по галереям. Для его определения оценивали процент изображений перемещённых между галереями ко всем изображениям, собранных в галереях. Предложенный алгоритм используется для оперативного контроля качества распознавания клеток крови системы Vision Nema и позволяет оперативно оценивать качество работы системы как для единичного анализа, так и для произвольно выбранного количества результатов исследования.

Предложенные критерии были использованы для оценки работы системы автоматического анализа мазка крови Vision Nema в группе условно здоровых людей (n = 21). В нее вошли работники (11 мужчин и 10 женщин) одного из предприятий г. Перми, у которых по данным профилактического осмотра, не обнаружено никаких заболеваний.

Для приготовления мазков крови использовали только ЭДТА-стабилизированную венозную кровь. Мазки выполняли на автоматическом устройстве V-Sampler («WestMedica», Россия). Для окраски клеток крови использовали общепринятую методику панхроматического окрашивания Романовского – Гимза.

Результаты и обсуждение

Время, затраченное на анализ 1 мазка крови с помощью системы Vision Nema, составило $4,43 \pm 1,33$ минуты. Это соответствует времени, которое отводится врачу клиник – диагностической лаборатории на подсчет 1 лейкоцитарной формулы в мазках крови не гематологических больных [10] и сопоставимо с затратами времени при использовании зарубежных аналогичных приборов [6]. Общее затраченное время на анализ 21 мазка крови составило 93 минуты.

Время, затраченное врачом, на анализ полученных результатов и их утверждение составило 29 минут, что в пересчете на 1 стеклопрепарат соответствует $1,38 \pm 0,52$ минут, что значительно меньше чем затраты времени системы на сбор галереи изображений ($p < 0,001$). Так как система Vision Nema позволяет совмещать автоматическое сканирование препаратов крови с оценкой и утверждением полученных результатов сотрудником лаборатории поэтому ее пропускная способность определяется скоростью сбора галерей изображений. Применение таких систем морфологического анализа крови существенно (почти в 3 раза) экономит время сотрудников лаборатории за счет автоматического сбора и предварительной сортировки клеток крови по галереям изображений. Уменьшение затрат времени на механический подсчет лейкоцитарной формулы, позволяет уделить больше внимания на более тщательный анализ морфологии клеток крови, грамотное оформление заключения по результатам анализа.

По результатам анализа каждого препарата VisionNema автоматически формировала 8 галерей изображений: 7 галерей изображений, включавших лейкоциты периферической крови (базофилы, эозинофилы, палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы, лимфоциты и моноциты) и 1 галерею изображений, идентифицированных системой как артефакты. Всего в них было

собрано 2100 изображений лейкоцитов и 364 изображения артефактов. После коррекции распределения клеток между галереями изображений в галереях изображений лейкоцитов накопилось 2056 лейкоцитов, а в галерее артефактов осталось 408 артефактов. Процент ручной коррекции клеток между галереями, который рассчитывался как отношение клеток перемещенных при валидации к общему количеству всех клеток, составил $9,2 \pm 3,1\%$.

Из 364 артефактов первоначально собранных системой: наиболее часто ($n = 188$) встречались разрушенные лейкоциты (клетки лейкоцитоллиза) (рис 1). В ряде случаев такие клетки можно было распознать по их морфологии и поэтому 24 клетки были идентифицированы и перемещены в соответствующие галереи лейкоцитов. При анализе системой такие клетки не идентифицировались как лейкоциты из-за отсутствия четкой зоны цитоплазмы и ядра (фото 1 и фото 2 - эти, и другие фото статьи см. на специальной цветной вставке журнала - прим. ред.) и помещались в артефакты.

Наиболее редко в галерее артефактов встречались изображения нормальных лейкоцитов ($n = 32$). Причиной их распознавания как артефактов явилось неправильное определение «маски» (схематического распределения области ядра и цитоплазмы, используемые программой для идентификации вида клеток). При анализе таких ситуаций установлены следующие возможные причины ее неправильной идентификации:

1. При адгезии на поверхности лейкоцитов частиц грязи, тромбоцитов, эритроцитов. При анализе таких изображений они воспринимаются как один объект, по своим характеристикам не соответствующий нормальному лейкоциту.
 2. Близкое расположение лейкоцитов друг к другу. В этом случае из-за соседства двух клеток они воспринимаются как одна разрушенная клетка.
 3. Плохое качество окраски. При щелочной pH красителя эритроциты окрашивались в серо-синий цвет и сливались с окраской цитоплазмы лейкоцитов. При слишком кислом pH - наоборот ядро лейкоцита окрашивается плохо, что приводило к слабой окраске лейкоцита.
- Остальные артефакты были представлены мегатромбоцитами ($n = 57$) или частичками грязи ($n = 87$) (рис.1.).



Рис. 1. Распределение артефактов по группам

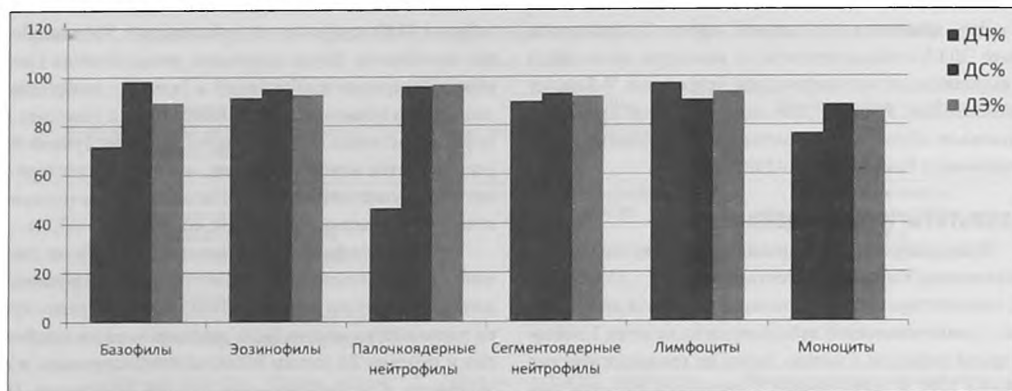


Рис.2. Операционные характеристики распознавания клеток крови у здоровых людей

Процент ручной коррекции в галерее артефактов составил 12,7%. 56 клеток (15,4%) были перемещены в другие галереи. В то же время в 108 изображений были перенесены в данную галерею из других групп клеток. Чаще всего это были либо грязь, либо мегатромбоциты (фото 3). В целом, при подсчете лейкоцитарной формулы в препаратах крови здоровых людей количество артефактов составило $19,8 \pm 8,7\%$ на 100 лейкоцитов. Система с высокой точностью идентифицировала захваченное изображение как артефакт и не включала его в галереи лейкоцитов. ДЧ, ДС, ДЭ их автоматического распознавания составили соответственно 75,5%, 97,2% и 93,7%.

Результаты операционных характеристик распознавания различных видов лейкоцитов приведены на рисунке (рис 2). Полученные результаты свидетельствуют о высокой способности цифровой системы автоматического анализа крови Vision Hema правильно идентифицировать нормальные клетки крови здоровых людей. Практически все операционные показатели распознавания нормальных клеток превышали 80%. Наиболее правильно система идентифицировала сегментоядерные нейтрофилы (ДЧ= $89,9 \pm 5,3\%$; ДС = $92,7 \pm 4,6\%$; ДЭ= $91,0 \pm 5,5\%$) и лимфоциты (ДЧ= $97,3 \pm 5,3\%$ ДС = $90,3 \pm 4,4\%$ ДЭ= $90,3 \pm 4,4\%$). Данные типы клеток резко отличаются по форме ядра, ядро – цитоплазматическому соотношению, что обеспечивает их хорошее распознавание компьютерной программой. Операционные показатели системы при определении моноцитов и эозинофилов были ниже, что обусловлено техническими сложностями анализа их изображения. Для правильной идентификации эозинофилов большое значение имеет оттенок окраски цитоплазмы. Оптимальной является окраска, при которой цитоплазма окрашена в ярко красный цвет. А наиболее частой проблемой при идентификации моноцитов являлась сложность их отличия от больших лимфоцитов.

Самые низкие значения изученных показателей обнаружены для палочкоядерных нейтрофилов, что связано с особенностями их строения. Система правильно распознавала палочкоядерные нейтрофилы с классической морфологией ядра, когда оно располагалось в виде дуги или подковы и имело одинаковую толщину (фото 4). Од-

нако, при анализе нейтрофилов с наложением сегментов друг на друга и отсутствием четко различимой сегментации ядра автоматизированная система допускала ошибки. Тем не менее, операционные характеристики распознавания палочкоядерных нейтрофилов превысили 90%, за исключением чувствительности, которая составила $46,5\% \pm 8,2\%$. Чаще всего палочкоядерные нейтрофилы помещались в галерею сегментоядерных нейтрофилов. Учитывая незначительное (до 4%) содержание таких форм нейтрофилов в крови здорового человека необходимость выполнения ручной коррекции при визуальной оценке правильности распределения клеток между галереями не приводила к увеличению затрат времени.

В практике отечественных лабораторий проточные гематологические анализаторы позволяющие дифференцировать все 5 типов лейкоцитов (5 diff) получили недостаточно широкое распространение. Чаще применяются более дешевые приборы, позволяющие оценивать лейкоцитарную формулу с разделением на 3 класса клеток: нейтрофилы (Neu) лимфоциты (Lymph) и так называемые средние клетки (Mid), что не соответствует стандартам подсчета лейкоцитарной формулы. Поэтому в таких лабораториях микроскопическое исследование проводится во всех случаях выполнения общего анализа крови. Применение автоматизированных систем анализа мазков крови, позволяет более рационально использовать рабочее время врача. Основное время сотрудник лаборатории сможет уделять анализу изображений клеток, которые были автоматически собраны и распределены в галереях изображений.

Заключение

Таким образом, автоматизированная система анализа крови Vision Hema, позволяет с высокой точностью выполнить подсчет лейкоцитарной формулы, что повышает качество лабораторных исследований за счет увеличения достоверности анализа, возможности его повторной оценки, более эффективного использования рабочего времени врача. Использование возможностей телемедицины позволяет в сложных случаях получить консультацию сотрудников, работающих в других лечебных учреждениях и выработать коллегиальное мнение. ■

Соснин Д. Ю. – д. м. н., доцент курса клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС ГБОУ «Пермская медицинская академия им. ак. Е. А. Вагнера» МЗ РФ, г. Пермь; *Фалков Б. Ф.* – руководитель отдела перспективных разработок ООО «WestMedica», г. Пермь; *Нешашева О. Ю.* – к. м. н., ассистент курса клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС ГБОУ «Пермская медицинская академия им. ак. Е. А. Вагнера» МЗ РФ, г. Пермь; Автор, ответственный за переписку - Соснин Дмитрий Юрьевич, 614017, г. Пермь, ул. Уральская д. 95., кв. 136., Адрес электронной почты: sosnin_dm@mail.ru

Литература:

1. Медовый В. С., Пятницкий А. М., Соколинский Б. З. и др. Автоматизированная микроскопия биоматериалов. Здравоохранение и медицинская техника. 2005. - №4: 42-3.
2. Хлопов А.Н. Машинное зрение в задаче автоматического подсчета клеток крови человека. Электронный научный журнал «Исследовано в России» 2007; 167: 1962 – 9 <http://zhurnalape.relarn.ru/articles/2007/167.pdf>
3. Surcouf C., Deleune D., Samson T., Foissaud V. [Automated cell recognition in hematology: CellaVisionDM96 TM system]. Ann. Biol. Clin (Paris). 2009; 67 (4): 419 – 24.
4. Yamamoto T., Tabe Y., Ishii S. et al. Performance evaluation of the Cella Vision DM 96 system in WBC differentials. Rinsho Byori 2010; 58 (9): 884 – 90.
5. Балаховский И. С. Достоверность подсчета лейкоцитарной формулы. Лабораторная диагностика 2007; №2: 14.
6. Ceelie H, Dinkelaar R B, van Gelder W. Examination of peripheral blood films using automated microscopy; evaluation of Diffmaster Octavia and Cellavision DM96. J. Clin. Pathol. 2007; 6 (1): 72 – 9.
7. Pierre R. V. Peripheral blood film review. The demise of the eye count leukocyte differential. Clin. Lab. Med. 2002; 22 (1): 279 – 97.
8. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. – Пер. с англ. – М.: Медиа Сфера. 1998, 352 с., илл.
9. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. – М., Практика, 1998. – 459 с
10. Приказ Минздрава РФ от 25.12.97 №380 «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранению Российской Федерации».

Оценка правильности распознавания клеток системы гематоцитоза крови Угояд Нова

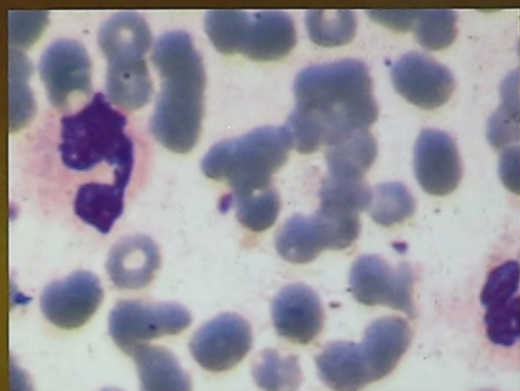


Фото1. Частично разрушенные нейтрофилы.
(ув. 10 x 90).окр. по Романовскому – Гимза

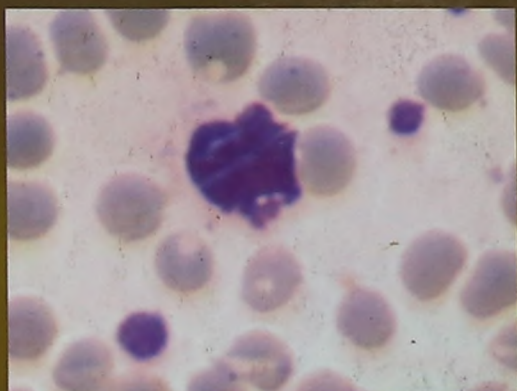


Фото2. Частично разрушенный лимфоцит.
(ув. 10 x 90).окр. по Романовскому – Гимза

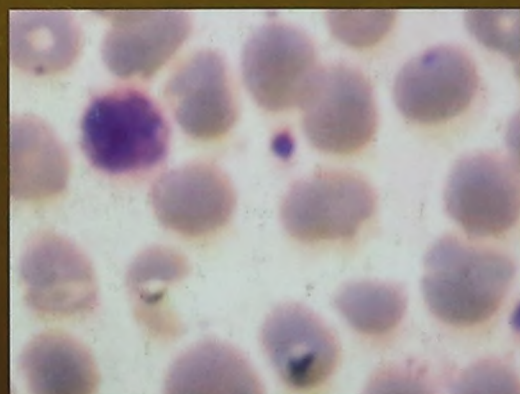


Фото3. Мегакариобласт
(ув. 10 x 90).окр. по Романовскому – Гимза

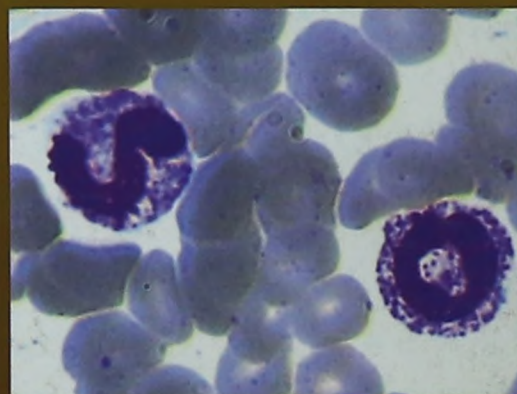


Фото4. Палочкоядерные нейтрофилы
(ув. 10 x 90).окр. по Романовскому – Гимза